

---

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

Second Semester Examination  
2016/2017 Academic Session

June 2017

**EKC 376 – Downstream Processing of Biochemical and  
Pharmaceutical Products**  
***[Proses Hiliran untuk Produk Biokimia dan Farmaseutikal]***

Duration : 3 hours  
*[Masa : 3 jam]*

---

Please ensure that this examination paper contains SEVEN printed pages and ONE printed pages of Appendix before you begin the examination.

*[Sila pastikan bahawa kertas peperiksaan ini mengandungi TUJUH muka surat yang bercetak dan SATU muka surat Lampiran sebelum anda memulakan peperiksaan ini.]*

**Instructions:** Answer **ALL** (4) questions.

**[Arahan:** Jawab **SEMUA** (4) soalan.]

In the event of any discrepancies, the English version shall be used.

*[Sekiranya terdapat sebarang percanggahan pada soalan peperiksaan, versi Bahasa Inggeris hendaklah diguna pakai].*

Answer ALL questions.

1. [a] Amino acids are molecules containing an amine group ( $NH_2$ ), a carboxylic acid group ( $RCOOH$ ) and a side-chain (usually denoted as  $R$ ) that varies between different amino acids. A molecule can have several acid dissociation constants. For amino acids, the  $pK_a^c$  constant refers to its carboxyl ( $-COOH$ ) group,  $pK_a^a$  refers to its amino ( $-NH_3$ ) group.

- [i] Proof that the **isoelectric point** of the amino acid without side chain can be determined based on the below equation:

$$\frac{1(+1)}{1 + 10^{(pH - pK_a^c)}} + \frac{1(-1)}{1 + \frac{1}{10^{(pH - pK_a^a)}}} = 0$$

[7 marks]

- [ii] Based on the given dissociation constant in Table Q.1, determine the isoelectric points of Proline and Methionine.

Table Q.1: Acid dissociation constant of amino acid

Amino acid	$pK_a^c$	$pK_a^a$
Proline	1.9	10.41
Methionine	2.10	9.05

[4 marks]

- [iii] If one would like to separate both amino acids via electrodialysis, suggest the optimum pH to be used. Justify your answer.

[4 marks]

- [b] In order to minimize the risk of a serious medical hazard due to cross contamination, dedicated and self-contained facilities must be available for the production of particular pharmaceutical products, such as highly sensitive materials (e.g. penicillins) or biological preparations (e.g. live microorganisms).

- [i] What are the basic principles of Good Manufacturing Practice towards the production facilities?

[4 marks]

- [ii] Suggest on how could the pharmaceutical industry eliminate cross contamination problem from the perspective of production facilities.

[6 marks]

Jawab SEMUA soalan.

1. [a] Asid amino adalah molekul yang mengandungi kumpulan amina ( $\text{NH}_2$ ), kumpulan asid karboksilik ( $\text{RCOOH}$ ) dan rantai sampingan (biasanya ditandakan sebagai R) yang berbeza antara asid amino yang berlainan. Suatu molekul boleh mempunyai beberapa pemalar peleraian asid. Untuk asid amino, pemalar  $\text{pK}_a^c$  merujuk kepada kumpulan karboksil ( $-\text{COOH}$ ),  $\text{pK}_a^a$  merujuk kepada kumpulan amino ( $-\text{NH}_3$ ).

- [i] Buktikan bahawa **titik isoelektrik** asid amino tanpa rantai sampingan boleh ditentukan berdasarkan persamaan di bawah:

$$\frac{1(+1)}{1 + 10^{(\text{pH} - \text{pK}_a^c)}} + \frac{1(-1)}{1 + \frac{1}{10^{(\text{pH} - \text{pK}_a^a)}}} = 0$$

[7 markah]

- [ii] Berdasarkan pemalar peleraian yang diberikan dalam Jadual S.1, tentukan titik isoelektrik untuk Prolin dan Metionin.

Jadual S.1: Pemalar peleraian asid untuk asid amino

Asid amino	$\text{pK}_a^c$	$\text{pK}_a^a$
Prolin	1.9	10.41
Metionin	2.10	9.05

[4 markah]

- [iii] Jika seseorang ingin memisahkan kedua-dua asid amino melalui elektrodialisis, cadangkan pH optima untuk digunakan. Wajarkan jawapan anda.

[4 markah]

- [b] Dalam usaha untuk mengurangkan bahaya kesihatan yang serius kerana pencemaran bersilang, kemudahan yang dedikasi dan serba lengkap mesti ada untuk pengeluaran produk-produk farmaseutikal tertentu, seperti bahan-bahan yang sangat sensitif (seperti penisilin) atau persediaan biologi (contoh mikroorganisma hidup).

- [i] Apakah prinsip asas Amalan Perkilangan Baik ke atas kemudahan pengeluaran?

[4 markah]

- [ii] Cadangkan bagaimana industri farmaseutikal boleh menghapuskan masalah pencemaran bersilang dari perspektif kemudahan pengeluaran.

[6 markah]

2. [a] Based on the structures of eukaryotic cell, suggest two common methods that can be used to disrupt the cells before the product can be released into the medium.

[10 marks]

- [b] Continuous rotary vacuum drum filter with a cycle time of 55 s and an area of 60 m<sup>2</sup> is used to filter penicillin from fermentation broth at a rate of 18,000 L/h. This filtration unit operates under vacuum at 50 kPa. The broth forms a compressible cake and the specific cake resistance is represented by  $\alpha = (4.37 \times 10^9)(\Delta P)^{0.3}$  m/kg. The suspension has a viscosity of  $8.937 \times 10^{-4}$  Pa.s and the cake solids (dry basis) per volume of filtrate is 308.1 kg/m<sup>3</sup>. The ratio of the volume of liquid retained by the cake to the volume of filtrate is 0.10. With the objective of achieving 80% washing efficiency and retaining only 2% of the filtrate, calculate the filtration time per cycle and the washing time.

[15 marks]

3. [a] With the aid of a diagram, discuss the working principles of a batch vacuum rotary dryer in drying process.

[8 marks]

- [b] Gentamicin is adsorbed from 5 L of feed solution using a newly proposed adsorbent. The initial concentration of gentamicin in the solution is 0.21 g/L. Table Q.3.[b] shows the experimental data obtained during the adsorption process:

Table Q.3.[b]

$y$ (g gentamicin/L solution)	$q$ (g gentamicin/g adsorbent)
0.3220	0.150
0.1170	0.122
0.0390	0.094
0.0061	0.059
0.0011	0.045

Assume that the density of the feed is the same as water. Show the proper material balances and solve both sections using graphical method :

- [i] If the process follows Freundlich isotherm, determine the experimental constants.

[7 marks]

- [ii] If a total of 14.0 g of adsorbent is added to the solution and mixed thoroughly to reach equilibrium, calculate the final equilibrium concentration and percentage of gentamicin adsorbed.

[10 marks]

2. [a] Berdasarkan struktur sel eukariot, cadangkan dua kaedah yang boleh digunakan untuk memecahkan sel sebelum produk dapat dibebaskan ke dalam medium.

[10 markah]

- [b] Penuras drum vakum berputar berterusan dengan masa kitaran 55 saat dan luas permukaan  $60 \text{ m}^2$  digunakan untuk menuras penisilin dari kaldu fermentasi pada kadar  $18,000 \text{ L/jam}$ . Unit penuras ini beroperasi di bawah vakum pada  $50 \text{ kPa}$ . Kaldu membentuk kek boleh mampat dan perintang kek spesifik diberi oleh  $\alpha = (4.37 \times 10^9)(\Delta P)^{0.3} \text{ m/kg}$ . Ampaian berkelikatan  $8.937 \times 10^{-4} \text{ Pa.s}$  dan pepejal kek (asas kering) per isipadu hasil turasan ialah  $308.1 \text{ kg/m}^3$ . Nisbah isipadu cecair yang disimpan oleh kek kepada isipadu hasil turasan ialah  $0.10$ . Dengan objektif untuk mencapai  $80\%$  kecekapan cucian dan menyimpan hanya  $2\%$  hasil turasan, kirakan masa penurasan per kitaran dan masa cucian.

[15 markah]

3. [a] Dengan bantuan gambarajah, bincangkan prinsip kerja bagi pengering berputar vakum kelompok dalam proses pengeringan.

[8 markah]

- [b] Gentamisin telah dijerap dari  $5 \text{ L}$  larutan suapan menggunakan penjerap yang baru dicadangkan. Kepekatan awal gentamisin dalam larutan ialah  $0.21 \text{ g/L}$ . Jadual S.3.[b] menunjukkan data eksperimen yang diperolehi semasa proses penjerapan :

Jadual S.3.[b]

y (g gentamisin/L larutan)	q (g gentamisin/g penjerap)
0.3220	0.150
0.1170	0.122
0.0390	0.094
0.0061	0.059
0.0011	0.045

Andaikan bahawa ketumpatan suapan adalah sama dengan air. Tunjukkan keseimbangan bahan yang sempurna dan selesaikan kedua-dua bahagian menggunakan kaedah grafik :

- [i] Jika proses mengikuti garis sesuhu Freundlich, tentukan pemalar-pemalar eksperimen.

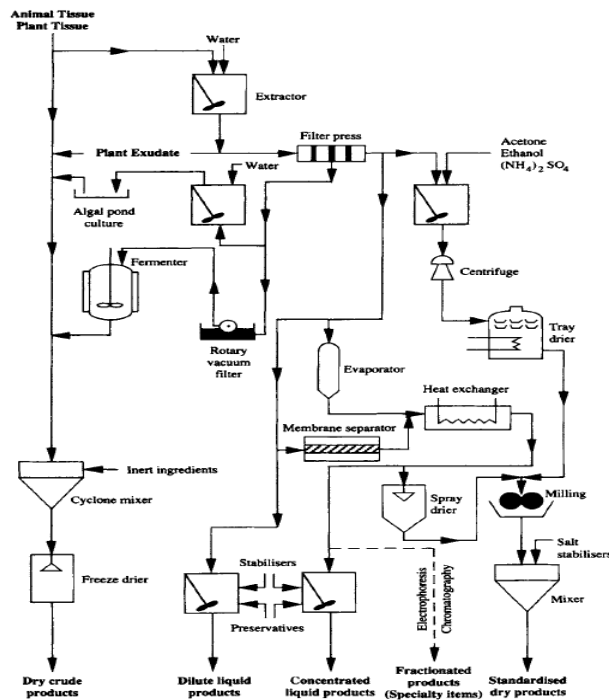
[7 markah]

- [ii] Jika sejumlah  $14.0 \text{ g}$  penjerap ditambah ke dalam larutan dan dicampurkan dengan teliti untuk mencapai keseimbangan, kirakan kepekatan keseimbangan akhir dan peratus gentamisin yang dijerap.

[10 markah]



4. [a] Suatu urutan unit operasi tertentu yang digunakan untuk pembuatan enzim ditunjukkan dalam carta aliran di Rajah S.4.[a]. Walaupun operasi yang sama terlibat dalam proses yang lain, urutan perjalanan, syarat-syarat yang digunakan dan bahan-bahan yang sebenar dikendalikan bertanggungjawab dalam keputusan akhir yang berbeza. Kenalpasti satu unit operasi untuk setiap Skima RIPP dan jelaskan asas pemisahan mereka.



Rajah S.4.[a] : Unit operasi dalam pembuatan enzim (Sumber B. Atkinson and F. Mavituna, 1991, Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook)

[8 markah]

- [b] Suatu larutan protein dinyahgaram dengan penurasan pencucian dalam mod kelompok. Modul membran mempunyai keluasan  $1 \text{ m}^2$  dan penurasan pencucian itu sedang dijalankan dengan fluks isipadu tetap  $1 \times 10^{-5} \text{ m/s}$ . Isipadu larutan protein dalam tangki suapan adalah 100 liter dan dikekalkan malar dengan penambahan penampakan gantian. Tiada halangan untuk garam melepasi membran tersebut dan kepekatan awal dalam suapan adalah  $2 \text{ kg/m}^3$ . Jika kadar aliran silang adalah  $10 \text{ L/min}$ , kirakan masa yang diperlukan untuk mengurangkan kepekatan garam kepada  $0.2 \text{ kg/m}^3$ .

[7 markah]

- [c] Suatu penyaring bersilang arus dengan empat peringkat keseimbangan digunakan untuk memisahkan protein daripada bahan cemar yang mempunyai 10% daripada berat protein (setiap 1 g protein mengandungi 0.1 g bahan cemar). Andaikan pelarut adalah tidak tercampur larut dengan aliran suapan dan faktor penyaringan bagi kedua-dua protein dan bahan cemar adalah 10 dan 1, masing-masing. Untuk nisbah isipadu pelarut kepada suapan sebanyak 0.2, apakah nisbah bahan cemar kepada protein dalam aliran keluar rafinat?

[10 markah]

Appendix

$$\lambda = \frac{KQ_E}{Q_R}$$

$$C_{R_{n+1}}\!=\!\left(\frac{\lambda^{n+1}-1}{\lambda-1}\right)C_{R1}$$

$$\frac{At}{V}=\frac{\mu\alpha\rho_0}{2\Delta P}\left(\frac{V}{A}\right)+\frac{\mu R_M}{\Delta P}\qquad R'=\left(1-\frac{E}{100}\right)^n\qquad \frac{t_w}{t_f}=2nf$$

$$q=Ky\qquad q=Ky^n\qquad q=\frac{q_0y}{K+y}$$